



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

EFFECTO SINERGICO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE
Origanum vulgare CON AMIKACINA COMPARADO CON AMIKACINA EN
Escherichia coli, IN VITRO

TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MÉDICO CIRUJANO

AUTORA:

APARES ARANGO ROSA MILAGROS

ASESORES:

Mg. POLO GAMBOA JAIME

Mg. ALFARO ANGULO MARCO

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TROPICALES

TRUJILLO – PERÚ

2016

PÁGINA DEL JURADO

Presidente: Mg. Fredy Cabrera Díaz

Secretario: Mg. Elizabeth Rici Ponce

Vocal: Mg. Marco Alfaro Angulo

DEDICATORIA

A MI PADRE

Jhonny Gustavo Apares Ramos

Un excelente amigo, con dedicación,
esmero y paciencia me ha enseñado
a afrontar los problemas de la vida,
mi razón de seguir.

A MI MADRE

Melania Arango Díaz

Es una gran mujer, fuerte,
luchadora, emprendedora,
optimista y trabajadora
Un ejemplo a seguir.

A MI ESPOSO E HIJA

Franklin Deza y Hefzibá Deza

Mi motivación más grande, mi
alegría, mi felicidad, mi razón de
ser, mi inspiración, mi todo. No
solo bastarían tres líneas para
expresar todo mi amor. Los amo.

ROSA APARES

AGRADECIMIENTO

A Dios

Por ser siempre mi guía, Él es mi fortaleza y tengo plena fe de que me apoya incondicionalmente en cada paso que doy.

A mis Asesores: Marco Alfaro Angulo y Polo Gamboa Jaime

Quienes asesoraron este esfuerzo con preocupación y por dedicar su tiempo y experiencia profesional para realizar con éxito este trabajo de investigación.

A mi Familia

Ellos son los que me impulsaron a seguir adelante con este sueño, y es por ellos que este sueño sea una realidad.

A la Universidad

Institución que me guio en mi desarrollo profesional mediante el proceso de enseñanza – aprendizaje en estos 5 años.

ROSA APARES

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Rosa Milagros Apares Arango, estudiante del Programa Gestión de los Servicios de la Salud, de la Escuela de Postgrado de la Universidad César Vallejo, identificada con DNI 71311701 ; con la tesis titulada **“EFECTO SINERGICO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORIGANUM VULGARE CON AMIKACINA COMPARADO CON AMIKACINA EN *ESCHERICHIA COLI*, IN VITRO”**

Declaro bajo juramento que:

- 1) La tesis es de mi autoría.
- 2) He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
- 3) La tesis no ha sido auto plagiado; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
- 4) Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De identificar la falta de fraude (datos falsos), plagio (información sin citar a autores), auto plagio (presentar como nuevo algún trabajo de investigación propio que ya ha sido publicado), piratería (uso ilegal de información ajena) o falsificación (representar falsamente las ideas de otros), asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 06 de Diciembre del 2016

Apares Arango Rosa Milagros

DNI: 71311701

PRESENTACIÓN

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: “**EFFECTO SINERGICO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *ORIGANUM VULGARE* CON AMIKACINA COMPARADO CON AMIKACINA EN *ESCHERICHIA COLI*, IN VITRO**”, cuyo objetivo es demostrar si existe efecto sinérgico antimicrobiano entre la asociación del aceite esencial de Origanum Vulgare con Amikacina sobre Escherichia coli y así contribuir con el conocimiento sobre un tratamiento coadyuvante o alternativo contra dicha bacteria.

Esta investigación la someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano.

Rosa Apares

ÍNDICE

PÁGINA DEL JURADO	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACIÓN	v
ÍNDICE	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Realidad Problemática	9
1.2 Trabajos previos	11
1.3 Teorías relacionadas al tema.....	13
1.4 Formulación del Problema	16
1.5 Justificación del Estudio	16
1.6 Hipótesis.....	17
1.7 Objetivos	17
II. METODO	18
2.1 Diseño de Investigación.....	18
2.2 Variables, Operacionalización	18
2.3 Población y muestra.....	20
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	21
2.5 Métodos de análisis de datos.....	23
2.6 Aspectos éticos.....	23
III. RESULTADOS.....	25
IV. DISCUSIÓN.....	26
V. CONCLUSIONES	28
VI. RECOMENDACIONES.....	29
VII. REFERENCIAS	30
VIII. ANEXOS	36
Instrumentos.....	36
Validación de los instrumentos.....	37
Matriz de consistencia	¡Error! Marcador no definido.

RESUMEN

Con esta investigación he querido determinar el efecto sinérgico antimicrobiana de la asociación del aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina, comparado con Amikacina sobre cepas de *Escherichia coli*. Se realizó un estudio experimental – cuantitativo donde se utilizó placas Petri conteniendo cepas de *Escherichia coli*, aceite esencial de orégano y Amikacina. Se aplicó el método de Kirby Bauer (discos de difusión) en 25 placas Petri. El grupo experimental fue tratado con aceite esencial de orégano y Amikacina. En el grupo control se utilizó Amikacina, luego se realizó la medición de los halos y se registraron los datos en la ficha de recolección de datos. Se encontró los halos de inhibición para *Origanum Vulgare* de 30.8 mm y para Amikacina 30.0 mm, contra *Escherichia Coli*. El aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina tiene una diferencia entre ambos halos de inhibición de 0.8 mm. Encontrándose un valor levemente superior a favor de la combinación del aceite de *Origanum vulgare* y Amikacina, el cual no es significativo.

Palabras claves: Aceite esencial, *Origanum vulgare*, Amikacina, *Escherichia coli*, efecto sinérgico.

ABSTRACT

With this research I wanted to determine the synergistic antimicrobial effect of the association of the essential oil of *Origanum vulgare* with Amikacina, compared with Amikacina on strains of *Escherichia coli*. An experimental - quantitative study was carried out in which Petri dishes containing strains of *Escherichia coli*, essential oil of oregano and Amikacina were used. The Kirby Bauer method (diffusion discs) was applied to 25 Petri dishes. The experimental group was treated with essential oil of oregano and amikacin. Amikacin was used in the control group, then the halos were measured and data were recorded on the data collection tab. Inhibition halos were found for *Origanum Vulgare* 30.8 mm and for Amikacin 30.0 mm against *Escherichia coli*. The essential oil of *Origanum vulgare* with Amikacin has a difference between both inhibition halos of 0.8 mm. A slightly higher value in favor of the combination of the oil of *Origanum vulgare* and Amikacina which is not significant

Keywords: Essential oil, *Origanum vulgare*, Amikacin, *Escherichia coli*, synergistic effect.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad Problemática

La bacteria *Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo que está desarrollando nuevos mecanismos de resistencia que destruyen los antibióticos de última generación, esta resistencia se está propagando rápidamente en muchos países.(1) Existen bacterias multirresistentes que con sus defensas pueden volver ineficaz a los antibióticos más potentes. Estos nuevos mecanismos de resistencia se encuentran en *Escherichia coli*, que es el principal agente etiológico de las infecciones del aparato urinario (ITU). (2)

Las ITU son y siempre han sido un gran problema de salud que aqueja a millones de personas cada año, de cualquier sexo y edad, ocupando el segundo lugar de frecuencia en los seres humanos. Se calcula que mundialmente ocurren al menos 150 millones de casos de esta enfermedad por año y en los EEUU, 7 millones de consultas son solicitadas cada año. En el Perú constituye el 6% de las atenciones médicas, con una prevalencia del 40% en pacientes hospitalizados.(1)

Casi en el 95% de los casos de ITU, hay un único patógeno involucrado como responsable. (1) El agente etiológico más frecuente de ITU en ambos géneros es la *Escherichia coli*, responsable del 85% a 90% de casos. Es por eso que en este estudio hemos utilizado el agente más frecuente para realizar la investigación.

Un estudio realizado en México nos dice que la resistencia de *Escherichia coli* frente a ampicilina y Cefazolina es muy alta, pero no a los aminoglucósidos. Estos fármacos eran considerados de elección para el manejo empírico de ITU adquirida en la comunidad. (2)

Por otro lado en el Perú la resistencia de *Escherichia coli* frente a los antimicrobianos está muy elevada, por ejemplo la tasa de resistencia a la ampicilina es de 62,6%, al Cotrimoxazol (48,6%) y Tetraciclina (43,0%), mientras que la resistencia fue menos elevada para Cloranfenicol (15,8%) y Aminoglucósidos (10.04%), dándonos cuenta que es necesario buscar nuevos tratamientos alternativos y/o adyuvantes para enfrentar esta resistencia. (3)

En la medicación para las infecciones del tracto urinario se utilizan antimicrobianos como cefalosporinas, quinolonas, nitrofuranos, penicilinas, y aminoglucósidos en casos de infecciones complicadas. (1) En ese estudio se utilizó la Amikacina por ser uno de los fármacos más utilizados actualmente en el manejo de estas infecciones, tanto en la consulta ambulatoria como en pacientes hospitalizados.

Se debe saber también que existen otros tratamientos para combatir infecciones de esta naturaleza. Desde tiempos antiguos el ser humano se ha interesado en el empleo de las plantas como terapia básica, alternativa o coadyuvante para tratar sus afecciones.

Se calcula que el 80% de las personas en el mundo utiliza las plantas medicinales como tratamiento electivo para calmar sus molestias de salud. Existen en el mundo más de 250 mil especies vegetales y sólo se reconoce la actividad biológica del 10% de ellas, considerándose como medicinales alrededor de 25 mil especies de plantas. (4)

Conociendo esta realidad planteada, y teniendo información que el aceite esencial extraído del *Origanum Vulgare* posee actividad antimicrobiana contra las infecciones urinarias, es apropiado realizar investigaciones al respecto como terapia adyuvante asociado a Amikacina contra *Escherichia coli*.

Conocida la realidad problemática asociado a la escasez de estudios acerca del efecto sinérgico antimicrobiano del aceite esencial de orégano con Amikacina, y la necesidad de buscar nuevos tratamientos alternativos o

coadyuvantes para el manejo de las infecciones que conllevan un gran aumento de los costos, en especial de patologías causadas por *Escherichia coli* como las ITU, aunado al hecho que existe una gran resistencia bacteriana a dicho germen, motivó nuestro especial interés para realizar esta investigación,.

El presente trabajo de investigación busca plantear un tratamiento complementario/coadyuvante que sea accesible a todo público, intentado reducir costos y aminorar efectos adversos con los antibióticos sintéticos. Los resultados de esta investigación nos ayudarán a ampliar conocimientos y servirán para que generen nuevas investigaciones a futuro, manejando otras variables.

1.2 Trabajos previos

Ortega M. et al (5) (México, 2011) Su objetivo fue estudiar la estructura química y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano, con el fin de emplearlo como preservante de alimentos. Realizaron un estudio experimental donde obtuvieron el aceite esencial mediante el sistema de destilación con vapor de agua. Los microorganismos los obtuvieron de la colección del laboratorio de microbiología acreditado en el centro de investigación y desarrollo de México. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano mostró mayor actividad contra *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus*, con un diámetro de inhibición 25.0 mm (Tukey, 0.05) para *E. coli*. Con este diámetro de inhibición lo catalogaron como extremadamente sensible, basándose en la clasificación según sensibilidad por Celikel y Kavas donde: Insensible = halo de inhibición <8,0 mm; sensible = 9-14 mm; altamente sensible = 15-19 mm; y extremadamente sensible > 20 mm.

Bastos M.et al (6) (Cuba, 2011) Tuvieron como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a 71 bacterias aisladas de leche bovina, dentro de los cuales estaba el género *Escherichia*

coli. Por hidrodestilación consiguieron extraer el aceite esencial de orégano y el método utilizado para este estudio fue la dilución en microplaca. Hallaron que la concentración bactericida mínima para *Escherichia coli* fue 0,35 % y 3,17% para *S. aureus*. Así mismo no presentó efecto para *Pseudomonas aeruginosa*. El halo de inhibición contra *Escherichia coli* fue $29,5 \pm 3,4$ mm. Concluyeron que el aceite esencial de orégano tiene efecto antimicrobiano contra las bacterias estudiadas.

Sokovic M.et al. (7) (Suiza, 2010) Sus objetivos fueron determinar la composición química y la actividad antibacteriana de aceites esenciales a partir de 10 hierbas de consumo habitual. Realizaron un estudio experimental y emplearon el método de microdilución y disco difusión para establecer la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y otras bacterias. El más alto y más amplio efecto antibacteriano, se demostró con el *Origanum vulgare* y su componente dominante Carvacrol (64.5%), que tuvo el mayor diámetro de inhibición de 26 mm frente a *Escherichia coli* siendo incluso mayor que la Estreptomicina (20mm de diámetro) que fue su grupo control.

Arcila L. et al. (8) (México, 2004) Su objetivo fue estudiar las propiedades, estructura y actividad biológica de los componentes del aceite esencial y de los extractos de Orégano. En este estudio experimental el método para la extracción del aceite esencial de orégano fue la destilación de arrastre de vapor. Se encontró como compuestos principales el carvacrol y el timol. Determinaron la buena capacidad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de orégano contra microorganismos patógenos como *Escherichia coli* y otras bacterias más. Los valores de la concentración inhibitoria mínima (CMI) del aceite esencial de orégano se establecieron entre 0.28-1.27 mg/ml contra *Escherichia coli* para obtener un diámetro del halo de inhibición de $20 \pm 3,2$ (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Chávez L.et al. (9) (Perú, 2009) Su propósito fue establecer el efecto sinérgico antimicrobiano del aceite esencial de orégano y Gentamicina contra *E. coli*. Obtuvieron el aceite esencial mediante el proceso de destilación por

arrastré de vapor de agua. Aplicaron el método de Kirby Bauer (discos de difusión) en 20 placas petri. Aislaron la cepa *Escherichia coli* obtenidos del laboratorio del hospital Guillermo Almenara Essalud. El grupo experimental fue tratado con Gentamicina y aceite esencial de orégano al 75%; mientras que el grupo Control, con discos de Gentamicina sola. Realizaron las mediciones de los halos y se registraron los datos. Encontraron que del grupo experimental resultaron 22,375 mm, mayores que los del grupo Control (20,75 mm). La prueba T determinó que la diferencia era estadísticamente significativa, $p = 0,001$ ($p < 0,05$). Concluyeron que sí existe efecto sinérgico antibacteriano in vitro entre el aceite esencial de orégano y la Gentamicina frente a *Escherichia coli*.

1.3 Teorías relacionadas al tema

La bacteria *Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo, anaerobio y móvil por flagelos que envuelven su cuerpo no formador de esporas. El género *Escherichia* se compone de cinco especies, de las que *Escherichia coli* es la más frecuente, conocida y la más distinguida desde el punto de vista clínico. Esta bacteria está asociada a una gran variedad de enfermedades, como Infecciones del tracto urinario, meningitis y gastroenteritis, así como la mayoría de las infecciones nosocomiales. La multitud de cepas capaces de producir enfermedad se encuentra reflejada en la diversidad antigénica de esta especie. Algunos serogrupos antigénicos específicos se asocian a mayor virulencia. (10)

Escherichia coli es la especie Gram negativa intestinal que causa el mayor número de infecciones extra intestinales ambulatorias y hospitalarias, así como las infecciones urinarias (85% -95%). (1) También está involucrada en infecciones abdominales y pélvicas, es responsable de 2% - 5% de las neumonías no intrahospitalarias y en conjunto con otras bacterias Gram negativas, responsable del 60 -70% de neumonía hospitalaria. *Escherichia coli*, en la etapa neonatal sigue siendo una de las principales causas de meningitis y de infecciones quirúrgicas. Esta bacteria era muy sensible a los

fármacos antimicrobianos, pero hoy, la frecuencia de resistencia a la ampicilina impide su uso de manera empírica, incluso en las infecciones extra hospitalarias. El índice de resistencia a las cefalosporinas de primera generación y a las quinolonas, están aumentando en las cepas extra hospitalarias. (11)

Aparte del tratamiento convencional con fármacos, se conoce que las plantas también muestran efecto antimicrobiano contra cepas de *Escherichia coli*, tal es el caso del orégano (*Origanum vulgare*), especie nativa de las islas Canarias; comprende docenas de diferentes especies de plantas. Las hojas secas del *Origanum vulgare* son de uso culinario común. Los españoles introdujeron el orégano al Perú hace más de 200 años. Alrededor de 1970 fue introduciéndose en la zona de la sierra central peruana, donde posteriormente se cultivó en forma extensiva. (12,13)

El género *Origanum*, pertenece a la familia *Lamiaceae*, planta aromática, con flores de color púrpureo rosáceo. Crece en lugares de mediana altura, soleados, secos y rocosos. (9) Se ha clasificado en 38 especies y 6 subespecies. Los botánicos informan que son cuatro los grupos de orégano con propósitos culinarios, el griego (*Origanum vulgare* spp. *Hirtum*), el español (*Coridohymus capitatus*), el turco (*Origanum onites*) y el mexicano (*Lippia graveolens*). (14, 15,16)

Los compuestos químicos en el *Origanum vulgare* identificados por la cromatografía de gases y espectrometría de masas, han reconocido de 16 a 56 compuestos diferentes, de los cuales predominan el carvacrol, timol, g-terpineno y r-cimeno. La composición y la cantidad de sus metabolitos secundarios dependen de factores climáticos, la altitud, la época de cosecha, y su estado de crecimiento. (17,18)

La hoja del *Origanum vulgare* además de ser utilizado como condimento en las comidas también se ha utilizado en la elaboración de productos de belleza, fármacos y licores. (19) Esta planta tiene varios usos, principalmente

como antiespasmódica, expectorante, y desinfectante. Tiene propiedades digestivas, y regulador de la motilidad; es estimulante biliar y funciona como tónico estomacal. (20)

Debido a la propiedad antioxidante del orégano, se propone que este puede ser empleado como sustituto de los antioxidantes sintéticos, cuando se lo utiliza como extracto. (21) Existen estudios sobre su efecto antimicrobiano; se ha demostrado que el aceite esencial de *Origanum vulgare* presenta actividad contra microorganismos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp*, *Listeria monocytogenes*. (6, 7, 8, 22)

Cuando se evaluaron los componentes aislados del aceite esencial de orégano y su actividad antimicrobiana, se encontró que los fenoles, carvacrol y timol poseen los más altos niveles de actividad contra microorganismos Gram negativos, ejerciendo su poder antimicrobiano directamente sobre los fosfolípidos de la capa externa de la membrana celular bacteriana, provocando cambios en la composición de los ácidos grasos, produciendo la ruptura de la membrana y muerte de la bacteria. (6, 23)

Con respecto a la Amikacina, es un antibiótico semisintético, de acción bactericida perteneciente al grupo de los Aminoglucósidos, procedente de la Kanamicina. La Amikacina se une a la subunidad S30 del ribosoma bacteriano, evitando la transcripción del DNA bacteriano y, por tanto, la síntesis de proteínas en los microorganismos susceptibles. (24)

La Amikacina se manifiesta activa "in vitro" frente a especies Gram negativas como *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, especies de *Proteus* (indol-positivos e indol-negativos), especies de *Klebsiella-Enterobacterias*, especies de *Acinetobacter* (*Mima-Herellea*) y *Citrobacter freundii*. También tiene efecto sobre Gram-positivos como *Estafilococos* productores y no productores de penicilinas, incluyendo cepas resistentes a la Meticilina. (25)

El espectro de actividad antimicrobiana de la Amikacina es el más amplio de todo el grupo y, por su peculiar resistencia a las enzimas que inactivan aminoglucósidos, es de particular utilidad en hospitales donde prevalecen microorganismos resistentes a Gentamicina y Tobramicina. La Amikacina está contraindicada en pacientes con historia de hipersensibilidad y reacciones graves a otros Aminoglucósidos. (26)

Está contraindicada la combinación de la Amikacina con productos neuro o nefrotóxicos y con diuréticos de acción potente. El mayor riesgo de presentar efectos tóxicos lo constituyen los pacientes con función renal deficiente, en tratamientos con dosis altas, o por periodos muy largos. No se recomienda el uso de este fármaco en el embarazo, porque está clasificado en la categoría C de riesgo, aunque no se ha demostrado su inocuidad durante el mismo. La Amikacina sólo debe emplearse en casos donde previamente se realizó la valoración de riesgo-beneficio para poder aplicarla. (26)

1.4 Formulación del Problema

¿Cuál es el efecto sinérgico antimicrobiano de la asociación del aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina, comparado con Amikacina sobre *Escherichia coli*?

1.5 Justificación del Estudio

Conocida la realidad problemática sobre el efecto sinérgico antimicrobiano del aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina se planteó la necesidad de buscar nuevos tratamientos alternativos o coadyuvantes que nos ayudaran a combatir las enfermedades producidas por esta bacteria, en especial las infecciones del tracto urinario, por el cual motivó mi interés de realizar esta investigación.

1.6 Hipótesis

H₁ = El efecto sinérgico antimicrobiano de la asociación del aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina es mayor o igual que con Amikacina sobre *Escherichia coli*.

H₀ = El efecto sinérgico antimicrobiano de la asociación del aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina es menor que con Amikacina sobre *Escherichia coli*.

1.7 Objetivos

GENERAL:

Demostrar el efecto sinérgico antimicrobiano de la asociación del aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina, comparado con Amikacina sobre *Escherichia coli*.

ESPECÍFICOS:

- Determinar el efecto sinérgico antimicrobiano de la asociación del aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina sobre *Escherichia Coli*.
- Determinar el efecto antimicrobiano de la Amikacina sobre *Escherichia Coli*.
- Comparar los resultados de ambos grupos de estudio.

II. METODO

2.1 Diseño de Investigación

Experimental puro

FORMULA	LEYENDA
$RG_1 \quad X_1 \quad O_1$ $RG_2 \quad X_2 \quad O_2$	<p>R: Asignación al azar</p> <p>G: grupo Placas petri con <i>Escherichia coli</i></p> <p>X_i: i – ésimo tratamiento donde:</p> <p>X₁= Aceite esencial de orégano asociado a Amikacina</p> <p>X₂ = Amikacina</p> <p>O: Medida del halo formado (zona de inhibición) post – aplicación del tratamiento</p>

2.2 Variables, Operacionalización

Variable dependiente: Efecto sinérgico antimicrobiano

Variable independiente: Concentración del aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina y Amikacina.

Variable	Definición Conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
Efecto sinérgico antimicrobiano	Vínculo entre dos agentes que, cuando se utilizan al mismo tiempo, producen un efecto antimicrobiano que es mayor que la suma de los efectos de los agentes individuales. (26)	Se determinará efecto sinérgico si el halo de inhibición es significativamente mayor a 17	Efecto sinérgico antimicrobiano	Cualitativa nominal
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> con Amikacina	Aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> es la fracción líquida volátil de orégano, destilable por arrastre con vapor de agua, que contiene las sustancias responsables del aroma de la planta importantes en la industria farmacéutica, que se combinará con Amikacina.(27)	Consistirá en la administración del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> con Amikacina	<i>Origanum Vulgare</i> con Amikacina	Cuantitativa continua

Amikacina	La Amikacina es un aminoglucósido, indicado en el tratamiento de corta duración de las infecciones bacterianas, incluido E.coli. (28)	Consistirá en la administración de Amikacina	Amikacina	Cuantitativa continua
------------------	---	--	-----------	-----------------------

2.3 Población y muestra

Población: Todas las bacterias *Escherichia coli* existentes y en el laboratorio de Ciencias Médicas de la Universidad Cesar Vallejo.

Muestra: Aquellas unidades formadoras de colonias (UFC) de *Escherichia coli* en las placas petri de estudio y que cumplan los criterios de selección.

La fórmula a utilizar será la siguiente (29):

$$n = \frac{2(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 S^2}{d^2}$$

$$n = 25 \text{ UFC}$$

Dónde:

$z_{\alpha} = 2.58$, asumiendo un nivel de confianza del 99%

$z_{\beta} = 1.282$, asumiendo una potencia estadística del 90%

$S^2 = 1.48$, según Chávez L.et al. 9 (Perú, 2009)

$\bar{x}_1 = 20.8$, según Chávez L.et al. 9 (Perú, 2009)

$\bar{x}_2 = 22.4$, según Chávez L.et al. 9 (Perú, 2009)

$d = \bar{x}_1 - \bar{x}_2 = 1.62$, según Chávez L.et al. 9 (Perú, 2009)

Muestreo: Aleatorio simple

Unidad de análisis: Placas petri con cultivo puro de *Escherichia coli*.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

La técnica aplicada para la realización de este proyecto fue la Observación de Campo Experimental. El instrumento a utilizar fue la hoja o ficha de registro de datos. El procedimiento para la recolección de la información, fue de la siguiente manera:

Las hojas de orégano frescas fueron compradas en el mercado zonal “La Unión” de Trujillo, procedentes de la provincia de Otuzco, porque en el mes de noviembre viene mayor cantidad de orégano de esa zona. Se consideró adquirir las mejores ramas de orégano, que no estuvieran secas ni marchitas. La identificación taxonómica de las hojas de orégano, se realizó comparando con las muestras determinadas y registradas en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo. (Anexo 1)

Se llevó al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo y se seleccionaron las hojas que estaban en mejores condiciones (no secas ni marchitas).

Para la extracción del aceite esencial se utilizó el método de destilación por arrastre con vapor de agua. Para extraer el aceite esencial de las hojas de orégano, se colocó 100 gramos de hojas en la cámara extractora del equipo. En el balón se colocó 250 ml de agua destilada que se calentó hasta ebullición, de esta manera el vapor de agua formado atravesó por la cámara extractora arrastrando el aceite esencial. Al pasar por el refrigerante se condensó el agua junto con el aceite esencial y al producto obtenido se denominó hidrolato que se recibió en pera de decantación, formándose dos fases que posteriormente se separó. La separación del aceite esencial de la droga vegetal del agua se realizó por diferencia de

densidad ya que el aceite esencial es inmiscible con el agua formando dos fases. (30)

Con respecto a la purificación del aceite esencial: El hidrolato que se obtuvo, contenido en la pera de decantación, se procedió a saturar con cristales de cloruro de sodio. Luego se adicionó éter etílico que permitió obtener dos fases bien marcadas. Se procedió a decantar separando la fase etérea. Este paso se realizó tres veces con la fase acuosa.

La fase etérea que se obtuvo, se hizo pasar por una columna abierta de cromatografía cuyo soporte fue sulfato de sodio anhidro, y se recuperó en un frasco ámbar limpio y esterilizado. (31)

El aceite esencial fue utilizado dentro de los 60 minutos después de haber sido extraído; o dentro de las 24 horas mantenido en refrigeración a 4° C.

Las Cepas de *Escherichia coli* fueron obtenidas del Laboratorio de la Universidad César Vallejo. Estas bacterias fueron identificadas en base a la morfología de las colonias, coloración Gram y pruebas bioquímicas convencionales.

Se realizó la reactivación de la cepa de *E. coli* en un tubo de ensayo con Agar Mueller Hinton inclinado. Además, se preparó las placas petri con el Agar Mueller Hinton mediante el método kirby Bauer.(32)

La suspensión preparada con *E. coli* reactivado en 2 mL de suero fisiológico tuvo una turbidez equivalente a la mitad del tubo N° 1 de la escala de McFarland, que contiene aproximadamente 3×10^8 UFC/mL.

Se realizó el inóculo de *E. coli*, en las placas petri con Agar Mueller Hinton mediante el método de hisopado en toda el área del medio. Tuvimos un total de 25 placas petri y a cada placa lo dividimos en 2 partes iguales, en cada parte dividida se colocaron los discos embebidos con el tratamiento

establecido de acuerdo a cada grupo (X_1 , X_2) y así se cumplió con las 25 repeticiones establecidas. Para observar el efecto inhibitorio del aceite esencial sobre el crecimiento de las bacterias. El aceite esencial de orégano tuvo la concentración del 100%.

La Amikacina de 500mg/41,67 mL fue diluida en solución Buffer para lograr una concentración de 12 mg/mL, así cuando se embebió los discos con 2,5 μ L de solución, llegaron a contener 30 μ g de Amikacina pura, concentración establecida para antibiograma. A esta concentración presenta un halo de inhibición mayor o igual a 17 mm de diámetro. (32)

Se realizó el antibiograma mediante la técnica de Kirby Bauer; y se aplicó 2,5 μ L de aceite esencial de orégano y 2.5 μ L de Amikacina preparada, además para el grupo control se agregó 5 uL de Amikacina.

Se calcularon los diámetros de los halos de inhibición de cada placa petri con el apoyo de una regla milimetrada. Todos los resultados se registraron en la ficha de recolección de datos. (Anexo 2)

2.5 Métodos de análisis de datos

Se registraron los datos en el paquete estadístico SPSS versión 21 en español. Para el análisis se emplearon: Promedios, Desviación estándar, Cuadros estadísticos, Análisis de varianza. Pruebas de comparación múltiple como: Duncan, Tukey.

2.6 Aspectos éticos

Se necesitó la veracidad de los datos recolectados para que el estudio sea confiable y fidedigno. Además se tomó en cuenta los protocolos de calidad del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS), revisando los parámetros M2, M7, M23 y M100.

M2- Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por disco. M7 – Métodos para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por dilución para bacterias aeróbicas. M23 – Desarrollo de criterios y parámetros de control de calidad para pruebas de susceptibilidad in vitro. M100 – Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. (32, 33)

III. RESULTADOS

Tabla 1

Diámetro del halo de inhibición producido por el aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina y Amikacina en *Escherichia coli*.

	Nº De repeticiones	Media	Rango Mínimo	Rango Máximo	Desviación típica
Esencial de <i>Origanum vulgare</i> + Amikacina	25	30,8800	28,50	35,50	1,81016
Amikacina	25	30,0000	27,00	34,00	1,38444
Total	50	30,4400	27,00	35,50	1,65566

Fuente: Ficha de recolección de datos

Tabla 2

Comparación del diámetro del halo de inhibición producido por el aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina y Amikacina en *Escherichia coli*.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	9,7	1	9,7	3,7	0,059 > 0.05
Error	124,6	48	2,6		no
Total	134,3	49			significativo

Fuente: Ficha de recolección de datos

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el efecto sinérgico antimicrobiano del aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina comparado con Amikacina en cepas de *Escherichia coli*, se estudiaron 50 pocillos de *Escherichia coli* cultivadas en 25 placas Petri. En cada placa Petri fueron administrados 2 tratamientos diferentes (para cumplir las 25 repeticiones por tratamiento): el aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina y Amikacina.

En relación al efecto sinérgico antimicrobiano del aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina, comparado con Amikacina sola en cepas de *Escherichia coli*, estadísticamente al comparar el aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina y Amikacina sola, no presentaron diferencia significativa. Se evidenció que el aceite esencial de *Origanum Vulgare* más Amikacina tiene un halo de inhibición promedio de $30.8 \pm 1,8$, al usar Amikacina sola el halo promedio fue 30.0 ± 1.3 . Esto es 1,43 mm más a favor de la unión entre la Amikacina con el aceite esencial de orégano.

Según las normas de funcionamiento de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (32), utilizaron los siguientes parámetros para clasificar la sensibilidad a la Amikacina: ≤ 14 (resistente), 15-16 mm (intermedio), ≥ 17 (sensible). Utilizando estos valores para medir el efecto sinérgico antimicrobiano de los tratamientos para *Escherichia coli* se encontró que el aceite esencial de *Origanum vulgare* se ubica en el rango de **sensible** con 30.8 mm, sin diferencia con el grupo control.

Los resultados de esta investigación difieren de los encontrados por Ortega M. et al (5) quienes encontraron actividad del aceite esencial de orégano contra *Escherichia coli*, con un diámetro de inhibición 25.0 mm (Tukey 0.05), clasificándolo según sensibilidad por Celikel y Kavas en extremadamente sensible. Si utilizamos la misma clasificación en nuestro estudio, el resultado que obtuvimos con el aceite esencial de orégano estaría dentro del rango extremadamente sensible con 30.8 mm.

Lo encontrado también difiere de lo que publicó Sokovic M. et al (7) el aceite esencial de *Origanum Vulgare*, tuvo un diámetro de inhibición de 26 mm frente a *Escherichia coli*; así mismo los resultados son diferentes a los de Bastos M. et al (6) quienes evidenciaron que el aceite esencial de orégano, tuvo un halo de inhibición de $29,5 \pm 3,4$ mm contra *Escherichia coli* a través de la técnica de difusión en agar.

Con quien analizaremos de una manera más ampliada, por la similitud metodológica, es con la investigación realizada por Chávez L. et al (9) quienes determinaron el efecto sinérgico antibacteriano del aceite esencial de *Origanum Vulgare* y la Gentamicina mediante el mismo método aplicado en nuestro estudio, el Kirby Bauer (discos de difusión). Ellos utilizaron la concentración del aceite esencial de orégano al 75% y encontraron que la unión de Gentamicina con el aceite esencial de orégano es más efectiva en 1,625 mm a diferencia de la Gentamicina sola. En esta investigación utilizando el aceite esencial de orégano al 100% se obtuvo que la unión de la Amikacina con el orégano es más eficaz en 1,43 mm más que la Amikacina sola.

Finalmente, aunque el efecto sinérgico es mínimo y la diferencia no sea significativa, consideramos que las diferencias encontradas entre los diámetros de los halos de inhibición de los antecedentes y los de nuestra investigación, podrían atribuirse a múltiples factores como el tipo de suelo, el tiempo (estación) en la que es recolectado la muestra, etc. A pesar de ello esta investigación es un aporte que puede motivar a futuras investigaciones a buscar tratamientos alternativos y/o coadyuvantes contra *Escherichia coli*.

V. CONCLUSIONES

1. El efecto sinérgico antimicrobiano de la asociación del aceite esencial de *Origanum Vulgare* con Amikacina sobre cepas de *Escherichia Coli* fue de 30.8 mm de diámetro.
2. El efecto antimicrobiano de la Amikacina sola sobre cepas de *Escherichia Coli* fue de 30 mm de diámetro.
3. El aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina tiene igual eficacia que Amikacina sola contra *Escherichia Coli*, con una diferencia entre ambos halos de inhibición de 0.8 mm.

VI. RECOMENDACIONES

1. Efectuar la extracción del aceite esencial de orégano, que sean de ciudades diferentes y determinar si hay diferencia del efecto sinérgico antimicrobiano de acuerdo al tipo de suelo de cada ciudad.
2. Efectuar este tipo de investigaciones comparando el efecto sinérgico antimicrobiano entre otros tipos de aceites esenciales de plantas que actúen contra *E. coli*.
3. Efectuar este tipo de investigaciones comparando el efecto sinérgico antimicrobiano del orégano con otros tipos de fármacos convencionales contra *E coli*.
4. Desarrollar este tipo de trabajos de investigación comparando el efecto sinérgico antimicrobiano de los aceites esenciales, contra otras bacterias.
5. Motivar futuras investigaciones sobre las otras cualidades del aceite esencial de orégano, como las antifúngicas y antiparasitarias.

VII. REFERENCIAS

- 1- Echevarría J, Sarmiento E, Fernando P. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. Acta Medica Peruana. 23(1) 2006. [Citado el 15 de marzo del 2016]. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v23n1/a06v23n1>
- 2- Guajardo C, Gonzales P, Ayala J. Resistencia antimicrobiana en la infección urinaria por *Escherichia coli* adquirida en la comunidad. ¿Cuál antibiótico voy a usar? .Salud pública de México [Internet]. 2009, abril. [Citado el 10 de abril del 2016]. 51:155-158. Disponible en:
<http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v51n2/v51n2a12.pdf>
- 3- Pons M, Mosquito S, Ochoa T, Vargas M, Molina M, Lluque A. Niveles de resistencia a antimicrobianos, en especial a quinolonas, en cepas de *Escherichia coli* comensales en niños de la zona periurbana de Lima, Perú. Revista Peruana Medicina Experimental y Salud Pública [Internet]. 2012, febrero. [Citado el 10 de abril del 2016]. 29(1):82-86. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v29n1/a12v29n1.pdf>
- 4- Avello M, Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situaciones en Chile. Revista Médica Chile [Internet]. 2010, Junio. [Citado el 10 de abril del 2016]. 138: 1288-1293 Disponible en:
<http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v138n10/art%2014.pdf>
- 5- Ortega M, Robles R, Acedo E, Gonzales A, Morales A, Vázquez L. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano. Rev. Fitotec. Mex. [Internet]. 2011, Enero. [Citado el 15 de marzo del 2016]. 34 (1): 11 - 17. Disponible en:
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v34n1/v34n1a4.pdf>

- 6- Bastos M, Damé L, De Souza L, Almeida D, Alves M, Braga J. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas en leche de bovino. Revista cubana de plantas medicinales [Internet]. 2011, Enero. [Citado el 16 de marzo del 2016]. 16(3):260-266 Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v16n3/pla06311.pdf>
- 7- Sokovic M, Glamoclija J, Marín P, Brkic D, Van Grienvsven L. Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model. Rev Molecules [Internet]. 2010, Octubre. [Citado el 10 de abril del 2016]. 15 (11):7532-46. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21030907>
- 8- Arcila L, Loarca G, Lecona S, Gonzales E. Orégano: Propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. ALAN [Internet]. 2004, Enero. [Citado el 20 de abril del 2016]. 54(1), 100 - 111 Disponible en:http://www.alanrevista.org/ediciones/20041/oregano_propiedades_composicion_actividad_biologica.asp
- 9- Chávez L, Diaz F, Escalante G, Estrada E. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum Vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*. CIMEL [Internet]. 2009, Junio. [Citado el 15 de marzo del 2016]. 13(2):1680-8398. Disponible en: <http://www.cimel.felsocem.net/index.php/CIMEL/article/view/146/pdf>
- 10- Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Bacterias Gramnegativas En: Microbiología Médica Murray. 6ta edición. 2009. Mosby (Elsevier Science). Páginas: 326 – 329.
- 11- Gupta K. Trautner B. Infecciones de vías urinarias, piolonefritis y prostatitis. En: Kasper D. Fauci A. Hauser S. Longo D. Jameson L. Loscalzo J. Harrison Principios de Medicina Interna. 18ª edición. MC

GRAW HILL INTERAMERICANA EDITORES S. A. de C. V. 2012.
Páginas: 937 -940

- 12- Escamilla B, Moreno P. Plantas medicinales de la Matamba y el Piñonal, municipio de Jamapa, Veracruz. Instituto Literario de Veracruz, S.C.1ra edición. México 2015.
- 13- Sartoratto A, Machado A, Delarmelina C, Figueira G, Duarte T, Rehder V. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology [Internet]. 2014, abril. [Citado el 15 de marzo del 2016]. 35:275-280. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v35n4/v35n4a01.pdf>
- 14- Mejía K, Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. Editorial Enrique Uldemolins. 2da edición. Perú 2008
- 15- Albado E, Saez G, Grabiell S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum Vulgare* (Orégano). Rev Med Hered [Internet]. 2011, Julio. [Citado el 20 de abril del 2014]. 12 (1): 16 - 19. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v12n1/v12n1ao3.pdf>
- 16- A Vega B, Vásquez L, Idárraga P, Alzate G, Betancur H. Los secretos de las plantas: 50 plantas medicinales en su huerta. Editorial Fundación Secretos para contar. 3ra Edición. Colombia 2014.
- 17- Beltrán M, Cantillo M, Vivas A. Actividad antibacteriana de los aceites obtenidos de *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom*, *O. album*, *O. thrysiflorum*, para uso potencial en fitocosmética. Revista Investigaciones Andina [Internet]. 2013, Abril. [Citado el 15 de marzo del 2016]. 0124-8146. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inan/v15n27/v15n27a07.pdf>

- 18- Acevedo D, Navarro M, Monroy L. Composición Química del Aceite Esencial de Hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). Revista Información Tecnológica [Internet]. 2013, Marzo. [Citado el 15 de marzo del 2016]. 10.4067/S0718-07642013000400005. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v24n4/art05.pdf>
- 19- Amadio C, Medina R, Dediol C, Zimmermann M, Miralles S. Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. Rev. FCA UNCUIYO [Internet]. 2011, Enero. [Citado el 15 de marzo del 2016]. 0370-4661. Disponible en: http://t.bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/3927/amadio.pdf
- 20- Rodriguez E. Uso De Agentes Antimicrobianos Naturales En La Conservación De Frutas Y Hortalizas. Revista Ra Ximhai [Internet]. 2010, Noviembre. [Citado el 15 de marzo del 2016]. 7(1): 153-170. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/461/46116742014.pdf>
- 21- Paredes M, Gastélum M, Silva R, Martínez R, Nevárez G. Efecto antimicrobiano del orégano mexicano y de su aceite esencial sobre cinco especies del genero *Vibrio*. Rev Fitotec Mex [Internet]. 2007, Abril. [Citado el 20 de abril del 2014]. 30(3): 261 – 267 Disponible en: <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/30-3/7a.pdf>
- 22- Borboa J, Rueda E, Acedo E, Ponce J, Cruz M, García J, M Ortega. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de Aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subespecie *Michiganensis*. Tropical and Subtropical Agroecosystems [Internet]. 2010, Diciembre. [Citado el 15 de marzo del 2016]. 12 (2010): 539 - 547. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Evelia_Acedo_Felix/publication/48186922_EVALUACION_DE_LA_ACTIVIDAD_ANTIBACTERIANA_IN_VITRO_DE_ACEITES_ESENCIALES_CONTRA_Clavibacter_michiganensis_subespecie_michiganensis/links/00b7d52cb7c0b80330000000.pdf

- 23- Ponce A, Millones P. Efectividad antibacteriana de productos naturales frente a microorganismos patógenos de la flora oral. Rev In Crescendo. Ciencias de la Salud [Internet]. 2015, Noviembre. [Citado el 15 de junio del 2016]. 2(2): 530-537. Disponible en:
<http://revistas.uladech.edu.pe/index.php/increscendosalud/article/view/946>
- 24- H.P.Rang. M.M. Dale. J.M. Ritter. R.J. Flower. Rang Y Dale Farmacología. 6ta edición .Elsevier España, S.L. 2008. Páginas: 670 - 671
- 25- Molina J, Cordero E, Palomino J, Pachón J. Aminoglucósidos y Polimixinas. Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica [Internet]. 2009, febrero. [Citado el 30 de Marzo del 2015]. 27(3):178–188. Disponible en:
http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13134987&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=28&ty=135&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=28v27n03a13134987pdf001.pdf
- 26- Laurence L. Goodman E Gilman. 11ª ed. MC Graw Hill Interamericana Editores S. A. de C. V. 2007. Páginas: 1155 – 1167
- 27- Martínez A. Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica [Internet]. Universidad de Antioquia. Medellín. 2013, Enero. [Citado el 20 de abril del 2014]. Disponible en:
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>
- 28- Cordies J. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. Acta Médica [Internet]. 2008, Diciembre. [Citado el 20 de abril del 2014]. 8(1):13-27. Disponible en:
http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act03198.pdf

- 29- Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. 5ta Edición. McGRAW-HILL / INTERAMERICANA. México. 2010. pp.170 - 191

- 30- Martínez M, Cuellar M. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana. Cuba. 2008. p 125

- 31- Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Barcelona: Acribia S.A.; 2006. p. 242, 243, 491

- 32- National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth informational supplement. NCCLS [Internet]. 2007, Enero. [Citado el 16 de Abr. del 2014]. Disponible en:
<http://microbiolab-bg.com/wp-content/uploads/2015/05/CLSI.pdf>


- 33- Sacsquispe R. Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión / Elaboración. Instituto Nacional de Salud Lima [Internet]. 2012 [Citado el 16 de Abr. del 2014]. Disponible en:
http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf

VIII. ANEXOS

Instrumentos

Anexo N°01: Determinación taxonómica del *Origanum vulgare* por el Herbarium Truxillense

DESGLOSABLE	
Apellidos y Nombres: <u>Aperes Aengo Rose Milaycos</u> DNI <u>71311701</u>	
Objeto de la Solicitud: (Indicar en forma clara lo que solicita y detallar documentos que adjunta)	
<u>Determinación Taxonómica de Plantas</u>	
<u>Familia: LAMIACEAE</u>	
<u>N. c.: <i>Origanum vulgare</i> L.</u>	
N° Procedimiento del TUPA: <u>142</u>	<div>UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO FACULTAD U OFICINA <u>Herbario HUT</u> FECHA <u>07 / 10 / 2015</u> HORA: <u>9:50am</u> RECEPCIONISTA: <u>Eric F. Rodriguez P.</u> AUTOMATICO <input type="checkbox"/> S.A. (+) <input type="checkbox"/> S.A. (-) <input type="checkbox"/> PLAZO ATENCIÓN (Según TUPA): <u>07 días</u> REGISTRO _____ FIRMA <u>[Firma]</u></div>



Validación de los instrumentos
Anexo N°02: Ficha de recolección de datos

Efecto sinérgico antimicrobiano de la asociación del aceite esencial de *Origanum Vulgare* Con Amikacina Comparado Con Amikacina en *Escherichia Coli*, In Vitro.

N° DE REPETICIONES	TRATAMIENTO 1	TRATAMIENTO 2
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> + Amikacina	Amikacina
	Diámetro del halo de inhibición (mm)	
1	35,5	33,5
2	32	30
3	34	34
4	32	30
5	34	30,5
6	29	28,5
7	31,5	30
8	29,5	29
9	29,5	29
10	29,5	29,5
11	30	30
12	30,5	30
13	30	30
14	30,5	30
15	29,5	29
16	29,5	30
17	30	30,5
18	31	29,5
19	34	30,5
20	30	29
21	28,5	27
22	29,5	30
23	31	30
24	30	29,5
25	31,5	31
Promedio del diámetro del halo de inhibición	31.31	29.88

